专论 Perspectives

药物分子氘代修饰方法研究进展

李嘉怡[1,2]，王翰丞[2,3]，张 涵[2,3]，吴星宇[2,3]，陈秋实[2,3]，张庆伟[2,3]*

（1. 上海工程技术大学化学化工学院，上海 201620；2. 中国医药工业研究总院上海医药工业研究院有限公司，上海 201203；
3. 上海医药工业研究院有限公司，先导物成药性研究全国重点实验室，上海 201203）

摘要：氘代修饰是通过将药物分子中特定氢原子（H）替换成氘原子（D），从而改善药物分子在体内吸收、分布、代谢的效果，降低给药剂量或频率，提高安全性并获得更佳疗效的方法。氘代修饰已经成为理性药物设计和成药性优化的重要策略。氘代修饰方法主要包括化学合成法和生物酶催化法。其中，化学合成法包括含氘中间体引入法、卤素或不饱和键还原法、酸碱催化及金属催化的氢氘交换法等；生物酶催化法包括生物酶催化的氢氘交换、还原氘代和脱羧氘代法等。文章归纳了氘代修饰方法的最新研究进展，以期为氘代药物的研发提供一定参考。

关键词：药物分子；氘代修饰；合成方法；研究进展

中图分类号：TQ460.6；R914.2 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2024)11-1449-18

引用：李嘉怡，王翰丞，张 涵，等. 药物分子氘代修饰方法研究进展[J]. 中国医药工业杂志，2024, 55(11): 1449-1466.

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.11.001

Research Progress of Deuterated Modification of Drug Molecules

LI Jianyi[1,2], WANG Hancheng[2,3], ZHANG Han[2,3], WU Xingyu[2,3], CHEN Qiushi[2,3], ZHANG Qingwei[2,3]*

(*1. School of Chemistry & Chemical Engineering, Shanghai University of Engineering Science, Shanghai 201620; 2. Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203; 3. National Key Lab. of Lead Druggability Research, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Shanghai 201203*)

ABSTRACT: Deuterium substitution is a method that involves replacing specific hydrogen (H) atoms in drug molecules with deuterium (D) atoms, thereby improving the absorption, distribution, metabolism, and affecting of the drug molecules within the body. It can reduce the dosage or frequency of administration, enhance safety, and achieve better therapeutic outcomes. Nowadays, deuterium substitution has become an important strategy in rational drug design and optimization of druggability. The methods of deuterated modification primarily include chemical synthesis and enzymatic catalysis. Chemical synthesis encompasses techniques such as the introduction of deuterated intermediates, halogen or unsaturated bond reduction, acid/base catalysis, and metal-catalyzed hydrogen-deuterium exchange. Enzymatic catalysis involves methods such as enzyme-catalyzed hydrogen-deuterium exchange, reductive deuteration, and decarboxylative deuteration. This review outlines the latest research progress of drug molecule deuteration in recent years with the aim of providing references for the research and development of deuterated drugs.

Key Words: drug molecule; deuterated modification; synthesis method; research progress



【专家介绍】 张庆伟，博士，研究员，博士生导师，院一级学科带头人，上海交通大学、复旦大学、同济大学兼职博士生导师，科技部国家科技专家库专家，上海市药学会药物化学专业委员会委员，上海市科学技术奖评审专家，《中国医药工业杂志》副总编辑。先后荣获上海市“青年科技英才”、上海市青年五四奖章（个人）、上海市“青年科技启明星”、中央企业优秀共产党员等称号。主要从事中枢神经系统、靶向肿瘤免疫原创性新药研究及重大医药品种的绿色工艺产业化开发。主持国家十三五“重大新药创制”科技重大专项、国家自然科学基金、上海市青年科技英才扬帆计划、上海市青年科技启明星等18项项目。主持发现8个高效低毒、具有自主知识产权及综合竞争优势的候选新药。完成10余个医药品种绿色工艺产业化开发。发表研究论文40余篇；国内外学术会议报告20余次；合著英文专业书籍3本；申请发明专利50余项，获专利授权20余项。目前带教、指导博硕士研究生16名，连续多年有毕业生获“上海市优秀毕业生”荣誉。

氘（deuterium，D）是氢（hydrogen，H）的一种稳定形态非放射性同位素。与 H 原子相比，D 原子半径较大、亲脂性较低，C-D 键比 C-H 键短，振动拉伸频率和基态能量低，键断裂需要更高的自由能（二者差值为 1.2 ～ 1.5 kcal/mol），比 C-H 键更稳定，不易发生化学或代谢酶裂解 [1]。

氘代修饰是一种药物设计策略，是将药物分子特定部位的一个或多个 C-H 键用 C-D 键替代，从而获得新的药物分子。1961 年，BELLEAU 等 [2] 报道氘取代酪胺可增强药效；同年，ELISON 等 [3] 对吗啡进行氘代修饰，提高了安全性。氘代药物的后续研究相对缓慢，直到 2017 年，FDA 才批准首个氘代药物氘代丁苯那嗪（deutetrabenazine，**6**，商品名 Asutedo®）上市，结构如图 1 所示，主要用于治疗亨廷顿病相关的舞蹈症和迟发性运动障碍 [4—6]。截至目前，已有 4 款氘代药物经 FDA 或 NMPA 批准上市（图 1），数十款氘代药物处于临床试验各个阶段。氘代修饰已成为新药研发领域的热点之一，并在药物分析、核磁共振、光电材料、环境检测、污染源跟踪等领域，同样展现出良好的应用前景。

药物氘代修饰策略主要分为 2 种：一是对已上市药物进行氘代修饰，主要是改善其药物动力学参数（如 **6**、多纳非尼等）；二是在新化合物设计阶段便引入氘原子，得到含氘的新化学实体［如氘可来昔替尼（deucravacitinib，**15**）］。

氘元素的天然丰度较低，药物分子氘代需要通过含氘原料引入。氘代药物制备方法主要包括化学合成法和生物酶催化法。其中，化学合成法包括含氘中间体引入法、卤素或不饱和键还原法、酸碱催化及金属催化的氢氘交换法等；生物酶催化法包括生物酶催化的氢氘交换、还原氘代和脱羧氘代法等 [7—9]。本文归纳、总结了氘代修饰方法的最新研究进展，期望对氘代药物的研发提供一定参考。

收稿日期： 2024-05-06
基金项目： 上海市“科技创新行动计划”项目（21S11908000）
作者简介： 李嘉怡（1998—），女，硕士研究生，专业方向：药物化学。
通信作者： 张庆伟（1983—），男，研究员，博士生导师，从事原创性新药研究及医药品种产业化开发研究。
E-mail：sipiqingwei@163.com

1　化学合成法

化学合成法是目前制备氘代化合物较常用的方法，原料易得、成本可控、操作简便、易于工业放大 [7]。根据合成方式，化学合成法大致分为 3 种：①含氘小分子亲核试剂合成氘代药物；②含氘还原试剂合成氘代药物；③氢氘同位素交换法合成氘代药物。

1.1　含氘小分子亲核试剂合成氘代药物

使用含氘小分子亲核试剂通过取代、加成等简单化学反应，可在药物分子中引入含氘基团，进而合成氘代药物 [7—8]。该方法的优势是无需对药物的已有合成路线进行较大改变，无需使用昂贵的金属催化剂或苛刻反应条件便可引入氘原子 [9]。通过该法合成的氘代药物有 **6**、氘代马来酸氟伏沙明（deuterated fluvoxamine-D_3，**9**）、**15** 等。

首个氘代药物 **6** 的合成路线与丁苯那嗪的合成路线类似，如图 2 所示 [10]。以盐酸多巴胺（**1**）为起始原料，与甲酸乙酯经甲酰化反应得到中间体 **2**，再与三氯氧磷反应闭环得到中间体 **3**，**3** 与氘代甲醇经取代反应得到中间体 **4**，最后 **4** 与（2- 乙酰基 -4- 甲基戊基）- 三甲基碘化铵（**5**）经 Diels-Alder 反应，得到目标产物 **6**。总收率 49%（以 **1** 计）。

9 是首款选择性 5- 羟色胺再摄取抑制剂（selective serotonin reuptake inhibitor，SSRI）类抗抑郁药，由美国雅培（Abbott）公司研发，主要用于治疗抑郁症和强迫症。**9** 的合成路线如图 3 所示 [11]，以 4- 苄氧基 -1- 丁醇（**7**）为起始原料，与氘代碘甲烷经氘代甲基化反应，得到氘代中间体 **8**，收率 98%。**8** 再经氢化脱苄、溴化、格氏反应、Dess-Martin 氧化反应、缩合、取代及成盐等 7 步反应，得到目标产物 **9**，总收率 52%（以 **7** 计）。

达比加群酯是非肽类凝血酶抑制剂，临床使用时不能与 P 糖蛋白抑制剂（胺碘酮）联用，易引发较严重的胃肠道不良作用。文献 [12] 报道了高效、低毒的达比加群酯氘代衍生物的研究，其氘代衍生物合成是在达比加群酯的合成路线基础上，以氘代甲胺盐酸盐为起始氘代原料，与 4- 氯 -3- 硝基苯甲酸甲酯（**10**）反应，得到氘代中间体 **11**，收率 98%。**11** 再经还原、缩合、酯解等 7 步反应，得到氘代目

标产物氘代达比加群酯（**12**）。该路线（图 4）的总收率为 6%（以 **10** 计）。

15 是一种新型可口服的选择性酪氨酸激酶 2（tyrosine kinase 2，TYK2）抑制剂，可用于银屑病治疗[13]。2022 年，文献[14]报道了它的合成路线（图 5）。以 5- 氯 -2- 甲氧基苯甲腈（**13**）为起始原料，经环化、硝化、硝基还原、水解等多步反应得到中间体化合物 **14**，**14** 与氘代甲胺盐酸盐反应，引入氘得到目标产物 **15**，收率 75%（以 **13** 计）。

1.2 含氘还原试剂合成氘代药物

通过含氘还原试剂（如 $NaBD_4$、$LiAlD_4$ 等）引入氘也是一种常用的氘代药物合成方法，适合在碳 - 碳双键、碳 - 氧双键等不饱和键上引入氘原子。使用该法合成氘代药物或其中间体时，同样无需对目标化合物的原始合成路线进行较大改变，仅需将原合成路线中的 H_2、$NaBH_4$、$LiAlH_4$ 等氢化还原试剂

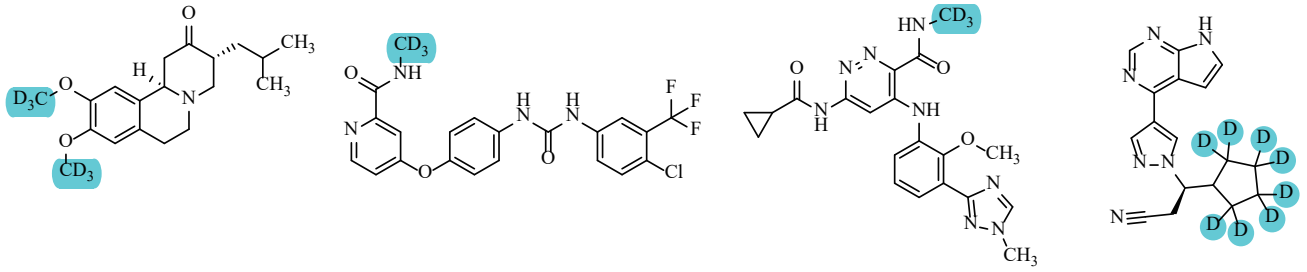


图 1 已上市的氘代药物

Fig.1 Approved Deuterated Drugs

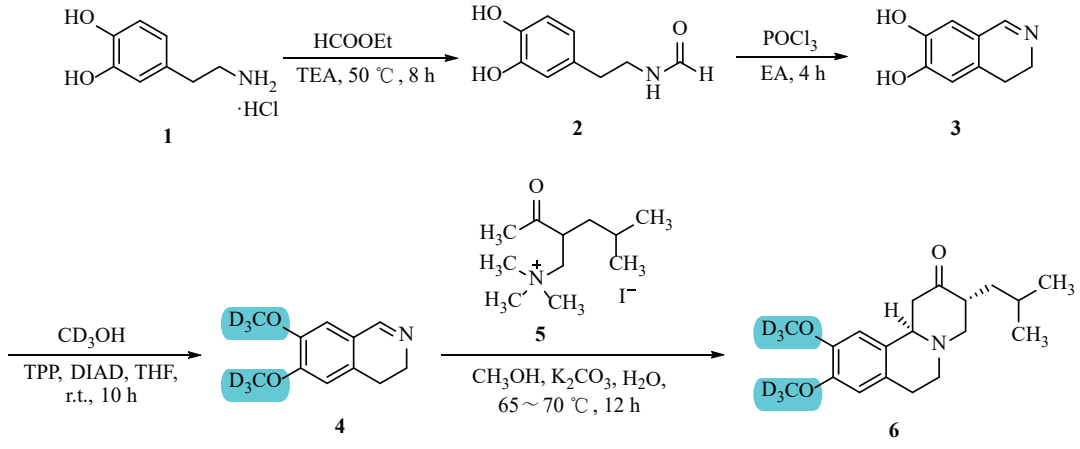


图 2 6 的合成路线

Fig.2 Synthetic Route of **6**

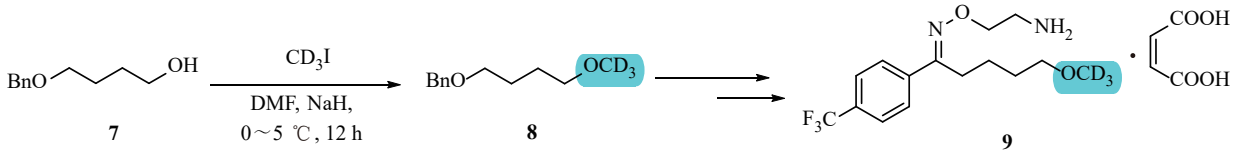


图 3 9 的合成路线

Fig.3 Synthetic Route of **9**

改为相应的含氘还原试剂。目前，该法已应用于多种氘代药物的合成，如氘代莱克多巴胺（deuterated ractopamine，**19**）、氘代多塞平等。

莱克多巴胺是一种 β- 肾上腺素受体激动药，可作为动物饲料添加剂提高饲料利用效率和家畜瘦肉产率。用同位素标记莱克多巴胺为内标，结合现代仪器可准确、高效地检测出兽用药的残留量。SU 等[15]对其氘代标记物制备进行研究，合成路线如图 6 所示。以对甲氧基苯甲醛（**16**）为起始原料，经羟醛缩合、双键还原得到中间体 **17**，**17** 经 $NaBD_4$ 还原生成中间体 **18**，**18** 经取代、缩合、还原、酯解共 6 步反应，得到目标产物 **19**，总收率 40.9 %（以 **16** 计）。

多塞平是一种三环类抗抑郁药，对抑郁症有较好的临床治疗效果。但研究表明，高血浆浓度三环类抗抑郁药物会导致多种中枢神经系统不良反应，甚至引起死亡，因此该类药物的血浆浓度需定期监测[16]。为便于定量研究，ADAMCZYK 等[17]用 $LiAlD_4$ 引入氘元素将其制成内标，制备路线如图 7 所示。用氘代锂铝还原 *N*- 多塞平氨基甲酸酯

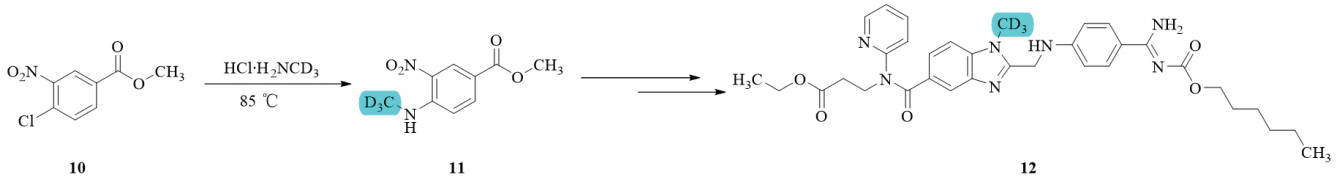


图 4　12 的合成

Fig.4　Synthetic Route of **12**

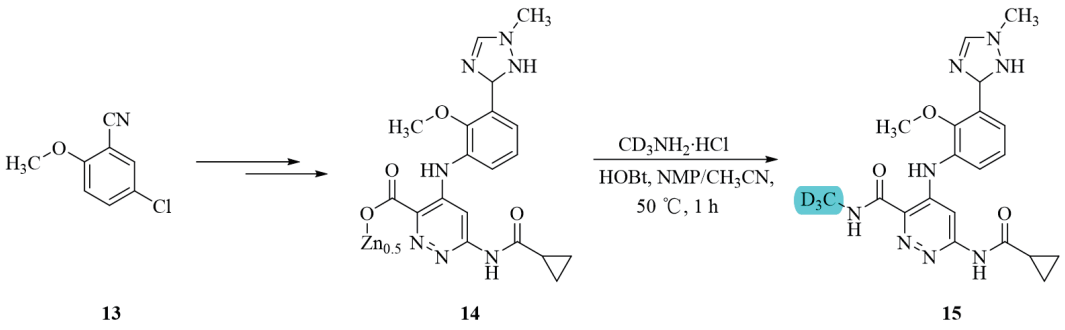


图 5　15 的合成路线

Fig.5　Synthetic Route of **15**

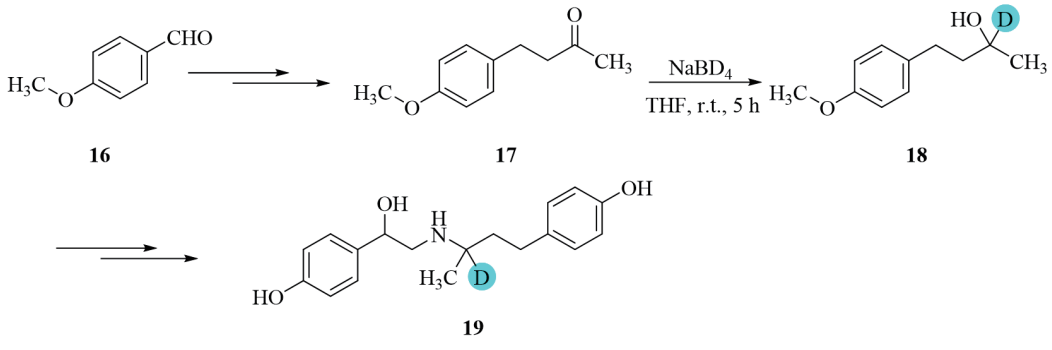


图 6　19 的合成

Fig.6　Synthetic Route of **19**

(**20**) 得到中间体 **21**，收率 79%；**21** 经与马来酸成盐，得到目标产物氘代多塞平马来酸盐 (deuterated deuterodedoxepin maleate，**22**)，收率 65%（以 **20** 计）。

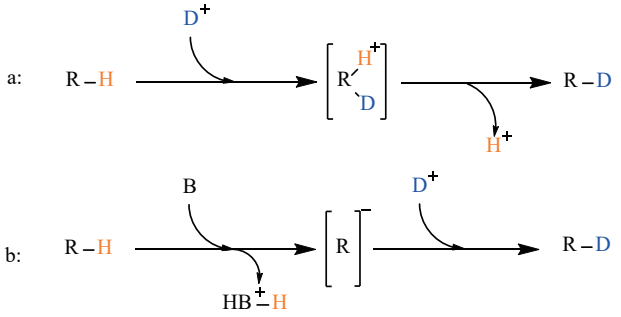
1.3 氢氘同位素交换法合成氘代药物

同位素交换是指化合物中的一种同位素与另一种同位素进行交换替代。氢氘 (H/D) 交换 (hydrogen-deuterium exchange，HDX) 是氢同位素交换法 (hydrogen isotope exchange，HIE) 的一种，与传统的多步合成法相比，HDX 具有效率高、步骤短、成本低的优势[18]（图 8）。

1.3.1 酸碱催化的 HDX

酸介导的 HDX 通过在底物上酸化加氘进行（图 9a），一般适用于芳香或杂芳香底物。碱性条件下进行的 HDX 反应则提供了一种替代途径（图 9b），一般适用于含有酸性质子的底物，如末端炔烃，或者带有电子吸引基团的底物（能稳定地去质子化），如含羰基的化合物[18]。

CTP-499(**27**) 是一种含多个氘原子的甲基黄嘌呤衍生物，合成路线如图 10 所示，在 K_2CO_3 碱性条件下，用 D_2O 在 3- 甲基 -7-(甲基 -d_3)-1-(5- 氧代己基)-3,7- 二氢 -1*H*- 嘌呤 -2,6- 二酮 (**23**) 上引入氘，经过 HDX 反应，**23** 中 4 位和 6 位的 5 个氢原子被氘原子取代，得到目标产物 **27**[19]，收率 54%（以 **23** 计）。



a—酸催化；b—碱催化。

图 9 酸碱催化的 HDX

Fig.9 HDX Catalyzed by Acids or Bases

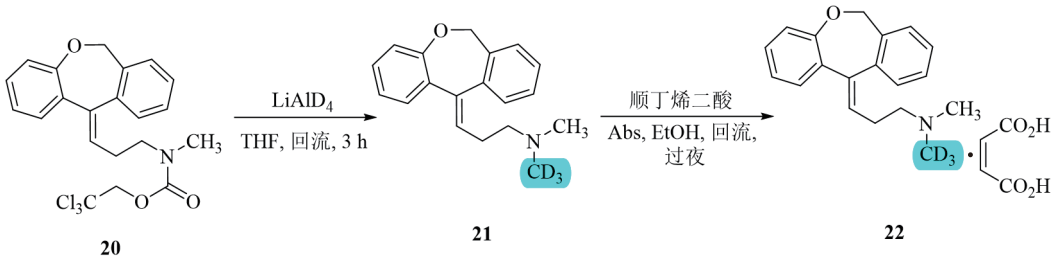
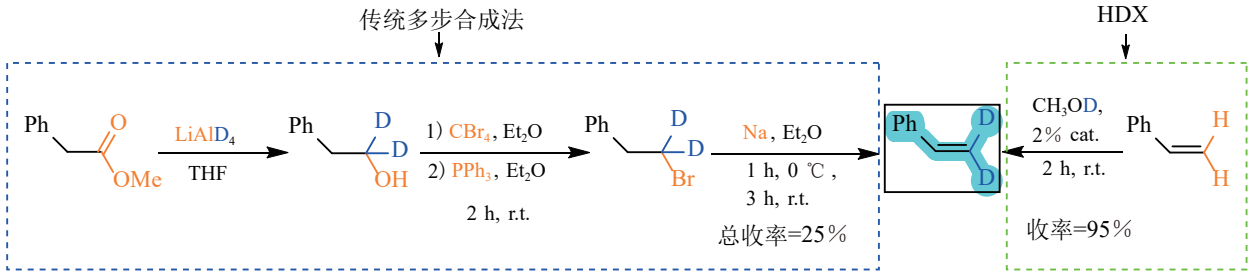


图 7 22 的合成

Fig.7 Synthetic Route of **22**



注：cat. = [RhClH(κ^{2}O, N-C_9H_6NO)(IPr)]

图 8 HDX 与传统合成的比较

Fig.8 Comparison of HDX and Traditional Synthesis

地西泮（diazepam，**28**）是苯二氮䓬类 γ- 氨基丁酸受体激动药，具有抗焦虑、镇静、催眠、抗惊厥等作用[20]。近年来，与之滥用相关的投毒、自杀等刑事案件时有发生，我国公安部物证鉴定中心以其氘代物（deuterosazepam，**29**）为内标用于样品检测，并开发了一条 HIE 合成路线，如图 11 所示[21]。该路线以 **28** 为起始原料、氘代氯仿为氘源，在碳酸钾碱性条件下，一步反应制备 3 位双氘代的 **29**，收率 84%（以 **28** 计）。该法操作简便、成本低廉，方便用于分析用氘代标准品的制备。

1.3.2　金属催化的 HDX 反应

以有机金属配合物为催化剂的有机化合物 HDX 反应，遵循 Lewis 酸型机制（图 12）。首先，底物与金属中心进行适当配位结合，络合物中的金属充当路易斯酸，从 L 基团中吸收电子密度，从而使附着的氢酸化。“活化氢”通过金属稳定的阴离子中间体与溶剂中的氘进行交换，用于氘标记药物分子的合成[18]。

1.3.2.1　铁催化

铁（0）配合物（H_4-^{iPr}CNC）$Fe(N_2)_2$（**30**），带有二（芳基氨基唑啉 -2- 酰基）吡啶配体，最初由 YU 等[22] 作为烯烃加氢的碱金属催化剂开发，被观察

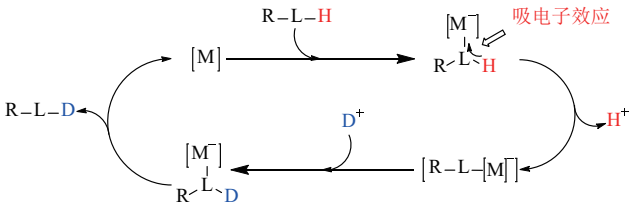


图 12　路易斯酸过渡金属配合物催化 HDX 的机制

Fig.12　Reaction Mechanism of HDX Catalyzed by Lewis Acid Transition Metal Complexes

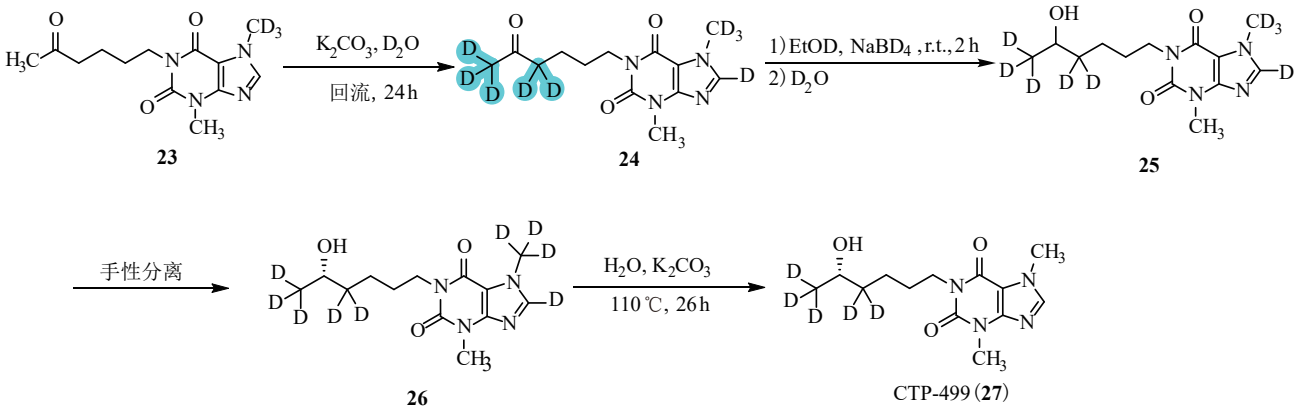


图 10　CTP-499 的合成方法

Fig.10　Synthesis Route of CTP-499

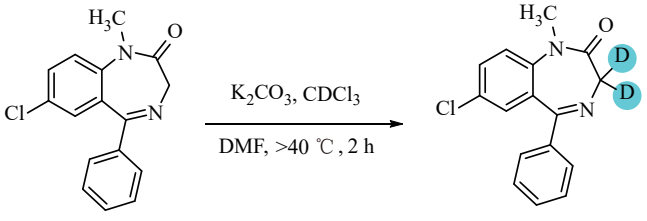


图 11　29 的合成

Fig.11　Synthesis Route of **29**

到在苯环的 HDX 中有促进作用，后被证明对一系列含氮、氧和硫原子的芳烃和杂芳烃的 HDX 反应同样具有催化活性。预催化剂铁 (0) 配合物具有富电子配体，易于与 H_2 氧化加成形成铁氢化物配合物 (H_4-^{iPr}CNC)$FeH_2(N_2)$ (**31**) 和 (H_4-^{iPr}CNC)FeH_4 (**32**)。这些配合物可激活苯和其他 HIE 底物的 C(sp^2)-H 键 (图 13)。多种药物如帕罗西汀、氟马西尼 (**38**)、MK-8228、MK-7246 等 (图 14)，经铁催化很容易激活 HIE 进行氘代制备。

1.3.2.2 镍催化

YANG 等 [23] 通过镍与配体前体结合，在原位生成氢化镍催化剂 (图 15)。均相氢化镍催化剂优先促进氮杂芳烃上的 HIE，表现出双位点选择性；在 *N*- 杂原子的 *α* 位置以及 *N*- 杂原子相邻环上的远端

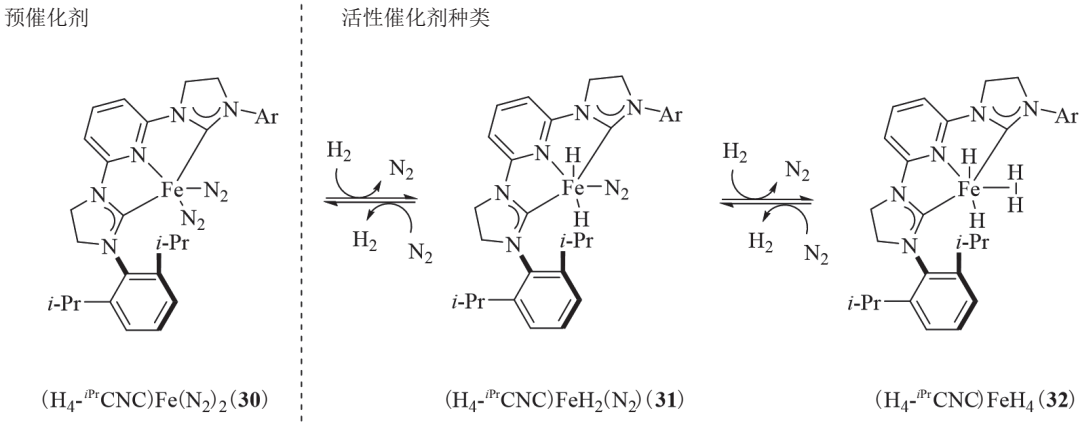
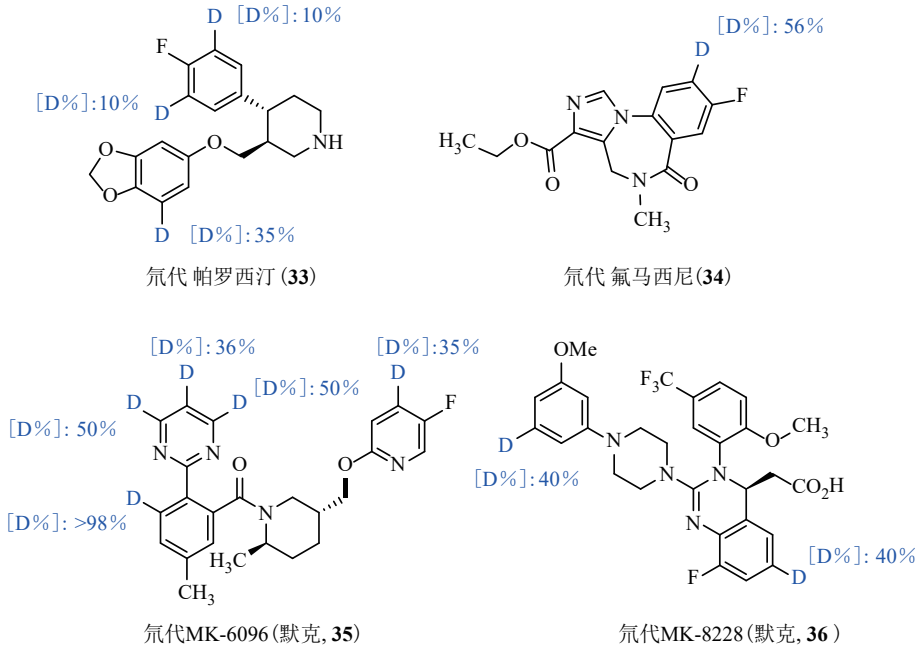


图 13 铁预催化剂及其相应的氢化物配合物

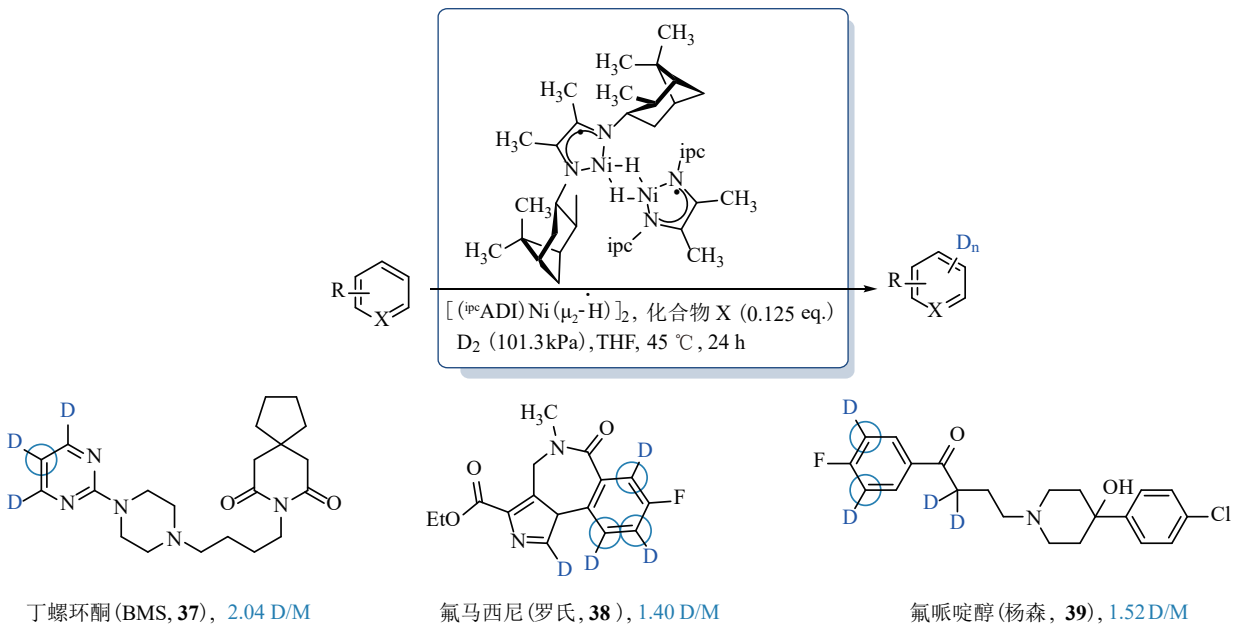
Fig.13 Fe Precatalyst and Its Corresponding Hydride Complexes



注：[D%]为氘代率

图 14 铁催化氘代标记的药物

Fig.14 Fe-Catalyzed Deuterium Labelling of Drugs



注：D/M表示“D/molecule”，即氘与总相对分子质量的比值

图 15　镍催化下的 HDX

Fig.15　HDX Catalyzed by Nickel

C-H 键处均观察到了 HIE，一系列氮杂芳烃的氘代试验证明了这一点。在温和的条件下，使用 D_2 气体（或氘气体）作为同位素源，新型镍催化剂可将氘（或氚）高效地引入到嘧啶或苯环上[24]。

1.3.2.3　银催化

洛沙坦是用于治疗高血压的经典血管紧张素 II 受体拮抗药，在体内经细胞色素 P450 代谢为 5- 羧酸洛沙坦；5- 羧酸洛沙坦半衰期更长，且不良反应更小。文献[25]报道了其氘代内标物的制备方法，以氘代苯衍生物四氘代 4- 溴甲苯（**40**）为起始原料，经格氏反应、氧化、取代、缩合等多步反应，最终合成氘代 5- 羧酸洛沙坦（**41**），如图 16 所示。其中，**40** 是 120 ℃下，以碳酸银和二苯基环己基膦配体（Ag_2CO_3/$CyPh_2P$）为催化剂、D_2O/ 甲苯为助溶剂，制备得到[26]。

1.3.2.4　铂催化

氘原子连接在苯环上的药物分子的制备，通常用氘代苯或其衍生物，如氘代溴苯、氘代苯胺、氘代苯甲酸等作为起始原料，经多步反应合成氘代化合物。地拉罗司是由瑞士诺华制药公司研发的铁螯合剂，是美国 FDA 批准上市的首个可用于常规治疗的口服驱铁药物，主要用于治疗因输血引起的慢性铁超负荷。

HAVALDAR 等[27]报道了氘代地拉罗司（deuterated deferasirox，**45**）的合成，具体如图 17 所示，氘代甲苯（**43**）经硝化、氧化、还原、重氮化等多步反应制备目标产物 **45**。其中 **43** 可由甲苯（**42**）在负载铂的铝钙氧化物组分催化下，在 D_2O 中与氢气反应制备。

1.3.2.5　铱催化

铱是 HIE 反应中用途较广的金属催化剂。最初用于烯烃双键加氢的 Crabtree 催化剂是迄今为止最常用的 HIE 催化剂，其中 DCM 是该催化剂的最佳溶剂。2010 年，NILSSON 等[28]研发了一种新型铱催化剂，用新型磷化氢及 *N*- 杂环卡宾（*N*-heterocyclic carbenes，NHC）配体构建，可在温和的反应条件下实现前列腺癌治疗药物尼鲁米特（nilutamide，**46**）高效氘氚交换（图 18）。

新型铱催化剂具有 *N*- 杂环羰基基团和磷化氢配体，在催化剂负载量低的条件下，C(sp^3)-H 键活化，用氘或氚气体可对特定底物进行高效标记[29]，例如使用负载为 0.05 当量的催化剂，可直接获得选择性氘代奥拉帕尼（**49**，一种卵巢癌治疗药物）[30]。通过

技术改良，在双室系统中使用 Zn/DCl/D_2O 产生 D_2 气体（0.3 MPa），可制备精神分裂症治疗药物 CX-546（**51**，图 19）[31]。

1.3.3 光催化 D_2O 裂解卤化物的可控氘代

卤素还原是光催化 D_2O 裂解卤化物的常见反应。例如，尼可刹米（nikethamide，**52**）是呼吸中枢兴奋药，临床上广泛用于治疗呼吸衰竭。研究团队[32]利用光催化剂（photocatalyst 1，PC1）实现了光催化氘交换反应，将苯环上的氯原子还原，成功制备了氘代尼可刹米（deuterated nikethamide，**53**），收率 69%，氘代率 99%（图 20）。反应机制如图 21 所示，利用类似的策略，还可获得埃托贝特、吡丙昔芬、

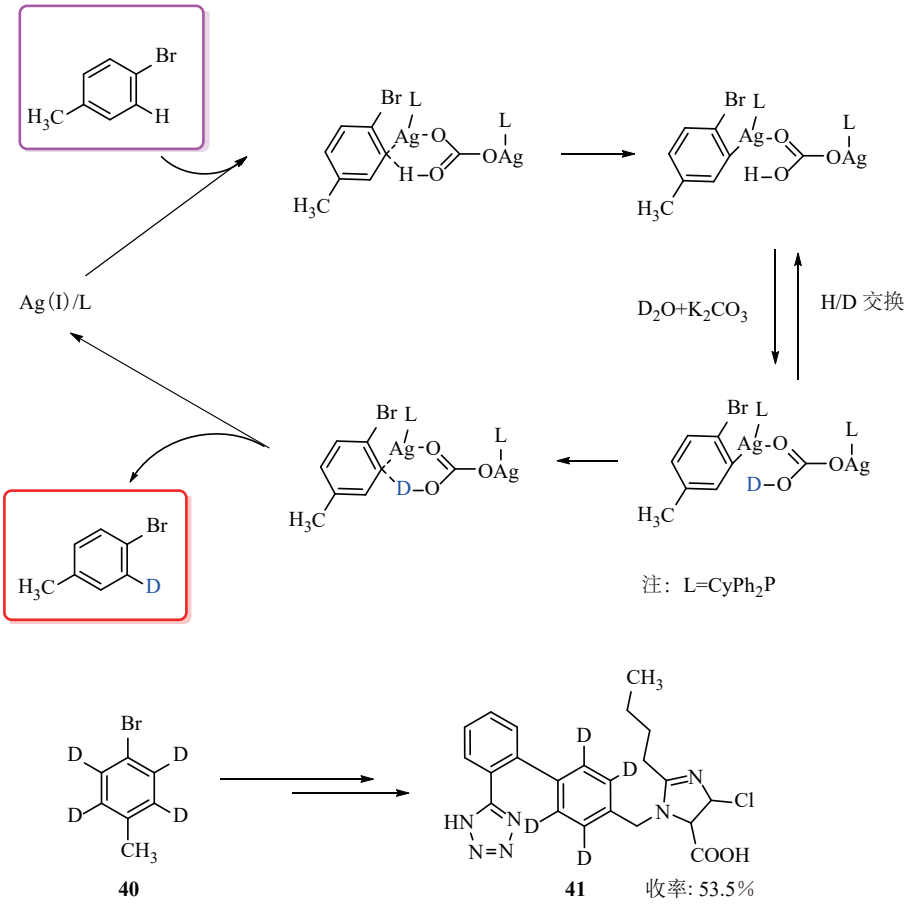


图 16 氘代洛沙坦类药物的合成

Fig.16 Synthesis of Deuterated Losartan Drugs

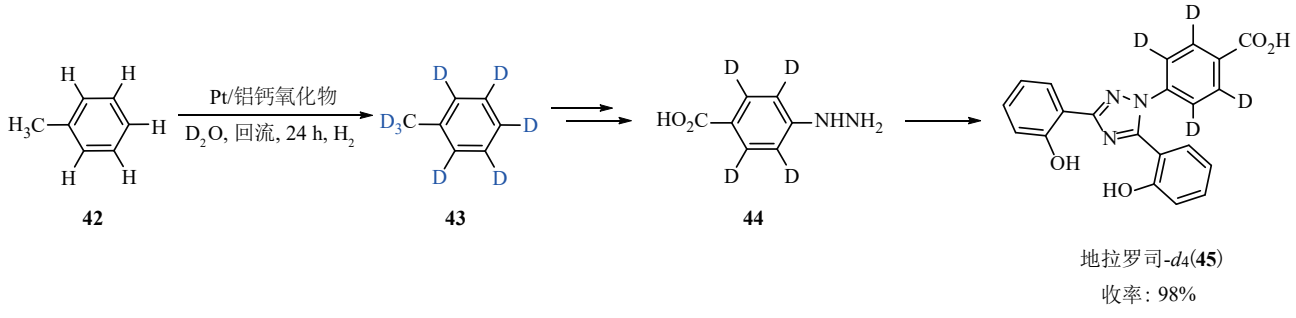


图 17 **45** 的合成

Fig.17 Synthesis of **45**

尼波西等氘代衍生物[32]。

C-X 键存在于许多有机分子和天然产物中[33]。有机卤化物的脱卤氘代是选择性合成氘代化合物的重要策略[34]。LIU 等[35]使用重水为氘代试剂，多孔硒化镉（CdSe）纳米片作为催化剂，对卤化物进行氘代。反应机制推测是通过光诱导电子从 CdSe 转移到底物，产生高活性的碳和氘自由基，接着发生串联自由基偶联过程（图 22）。

LIU 等[35]通过 Suzuki 偶联、点击反应（click reaction）、Heck 反应或 C-H 键插入反应再将氘结合

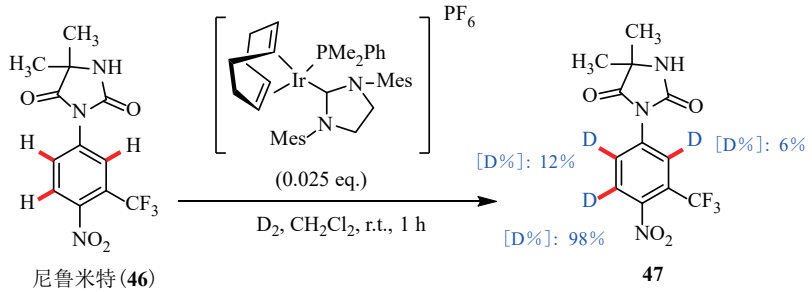


图 18　铱催化下的 HDX

Fig.18　HDX Catalyzed by Iridium

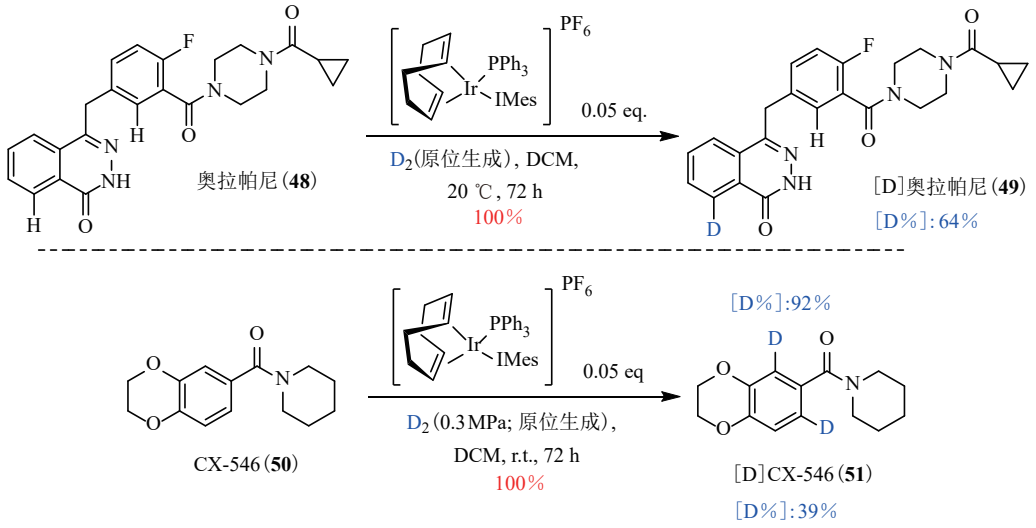


图 19　铱催化下 48 和 50 的 HDX

Fig.19　HDX Catalyzed by Iridium of **48** and **50**

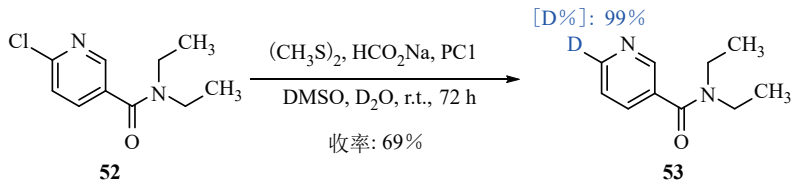


图 20　53 的合成

Fig.20　Synthesis of **53**

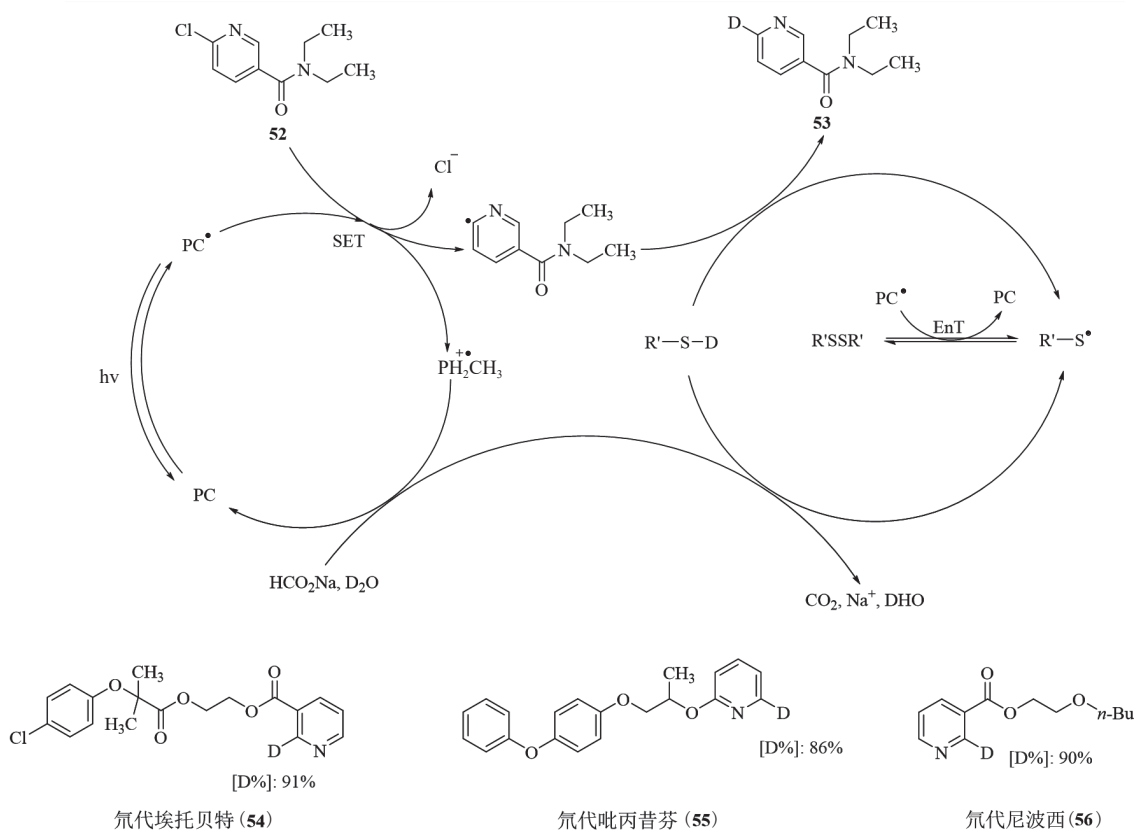


图 21 PC 催化剂的还原机制

Fig.21 Reduction Mechanism of PC Catalyst

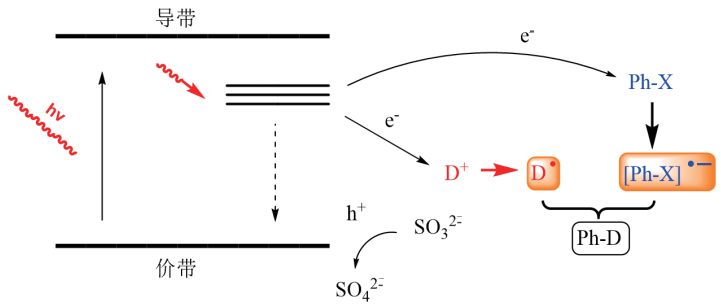


图 22 C-X 转化为 C-D 的自由基机制推测

Fig.22 Possible Radical Mechanism of C-X to C-D Transformation

到药物分子或高级材料上（图 23）。该策略能够实现对底物中氘原子数量的精确控制，可进一步用于氘代芳卤、硼酸、炔烃、烯烃等含氘药物或高级材料。

LEGROS 等[36]通过选择高 pK_b 值的有机碱、硫醇和光催化剂的组合，利用 D_2O 作为氘源，在蓝光照射条件下成功进行氨基酸和肽类分子的 HDX 反应（图 24）。对于含有 3 到 8 个氨基酸的各种受保护肽，该反应对赖氨酸侧链上伯胺的 α 位具有高度选择性，并且对许多官能团（酰胺、酚类、醇类）具有耐受性，已成功用于多种肽衍生药物的氘代，如伊帕瑞林、维格列汀、肝细胞生长因子、赖诺普利前体等[36]（图 25）。

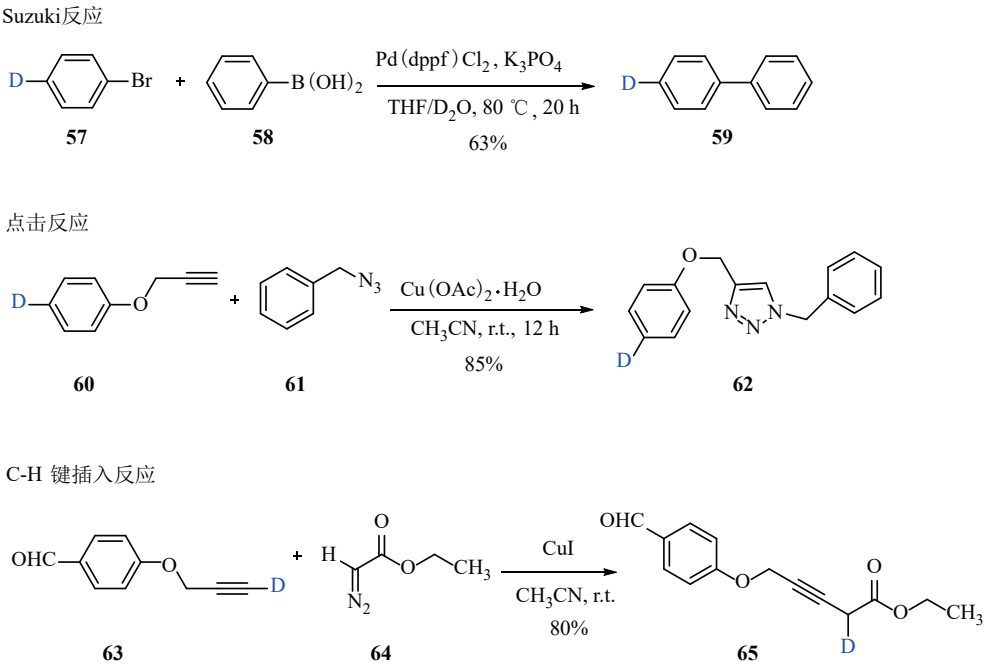


图 23　Suzuki 偶联、点击反应和 C-H 键插入反应引入氘原子

Fig.23　Introduction of Deuterium in Suzuki Coupling, Click Reaction, C-H Bond Insertion Reaction

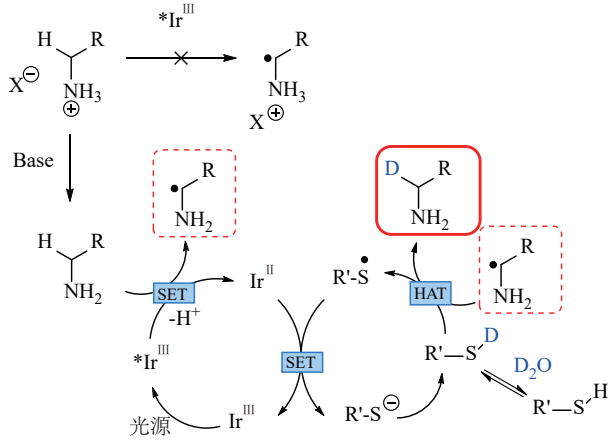


图 24　多肽光氧化催化 HIE 的机制

Fig.24　Mechanism of the Photoredox-catalyzed HIE in Peptides

2　生物酶催化法

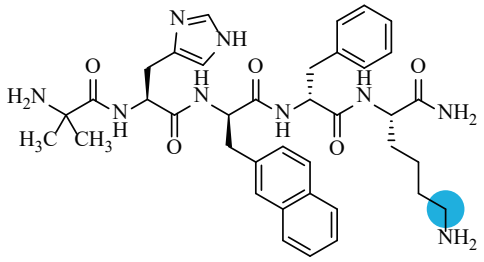
随着化学催化剂的研究与发现，碳氢键氘代的区域选择性得到了有效提升，但化学催化剂也存在一些缺点，如对映体的选择性差、反应条件苛刻。因此，需要探索更高效、更绿色、更高选择性的氘代方法。

生物酶催化具有能在常温常压下反应、速率快、过程绿色、高度立体选择性等优点，在不对称合成领域得到重视。近年来，通过生物催化在有机分子中引入氘的研究取得许多进展，主要包括氢氘交换、还原氘代、脱羧氘代 3 大类。

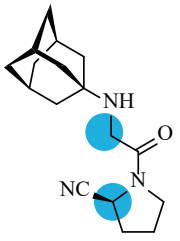
2.1　生物酶催化的 HDX

HDX 是通过催化剂活化，并用氘原子取代化合物中非活泼氢原子。吲哚与 *S*- 甲基 -L- 半胱氨酸在色氨酸酶的催化下合成 L- 色氨酸，BORODA 等[37]通过引入重水或氘水，实现了 *α*- 碳位置的同位素标记，氘代率 97%（图 26a）。另外，KAWATA 等[38]发现色氨酸酶会使 L- 酪氨酸 *α*- 碳位置上的氢不稳定，与重水或氘水发生氢氘或氢氘交换，最终生成标记产物，氘代率 98%。后续串联酪氨酸酶 (tyrosinase) 还可以发生进一步的羟基化[39]（图 26b）。

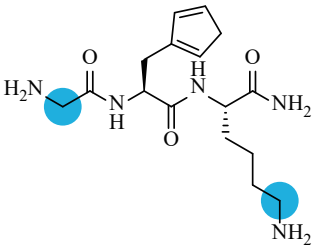
2017 年，ZHANG 等[40]发现还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate，NADPH，**76**) 与 D_2O 共存时，未发生 HDX。但向体系中加入黄素酶后，NADPH 可在数分钟内被氘代。这表明 NADPH 的活性氢原子并不会自发进行 HDX，而需要黄素酶催化。随后研究表明，将人类细胞放入含 D_2O 的细胞培养液中培养一段时间后，可在细胞中检测到被氘代的 NA-



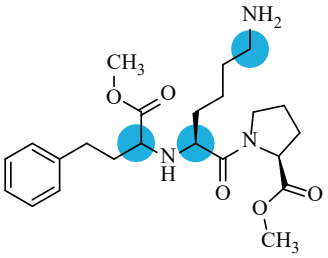
伊帕瑞林(ipamorelin, **66**)**1.0 D/M**



维格列汀(vildagliptin, **67**) **2.5 D/M**



肝细胞生长因子(liver cell growth factor, 68)**0.9 D/M**



赖诺普利前体(lisinopril, **69**)**0.9 D/M**

图 25 化合物 66 ～ 69 的化学结构

Fig.25 Chemical Structures of Compounds **66** – **69**

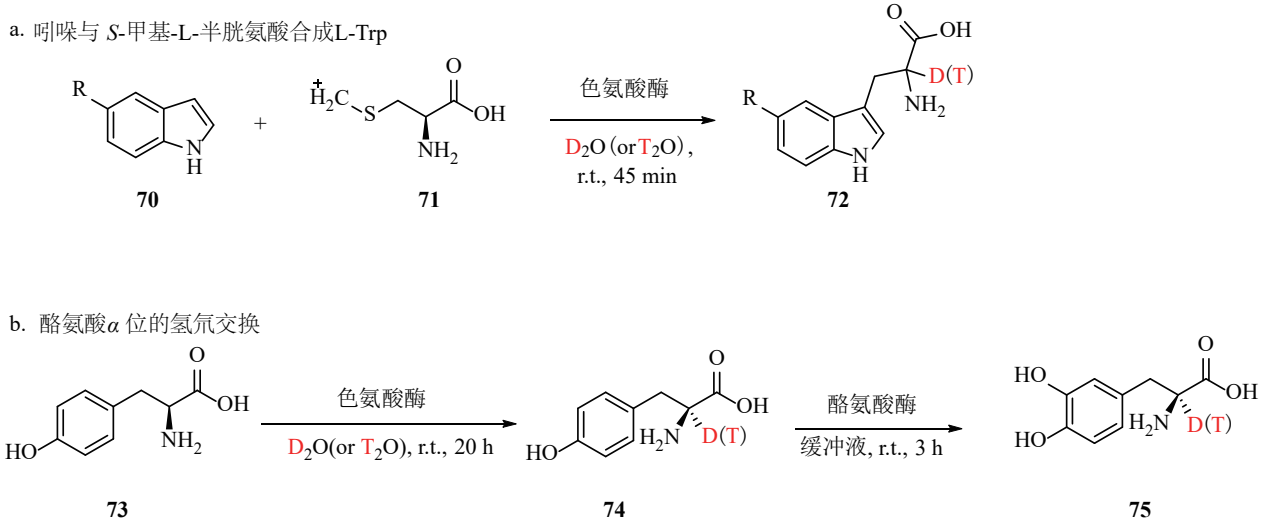


图 26 酶催化的 HDX

Fig.26 Enzyme-catalyzed Hydrogen-deuterium Exchange

DPH，进一步证明了黄素酶对 NADPH 的 HDX 起到催化作用。最后，通过 NADPH 的细胞内循环，将氘元素成功引入脂肪酸中（图 27）。

2.2 生物酶催化的还原氘代反应

生物酶催化的还原氘代反应是通过还原酶将供体分子上的氘转移到催化底物的特定位点上。2002 年，MACDONALD 等[41] 在 D_2O 体系中，用三磷酸核苷酸还原酶（RTPR，来自 *Lactobacillus leichmannii*）将 $^{13}C/^{15}N$ 标记的核苷三磷酸（dNTPs，**81**）的 2' 位羟基氢还原氘代。之后又用不同的酶合成了 2' 位羟基被氘代的腺苷三磷酸（adenosine triphosphate，dATP）、胞苷三磷酸（cytidine triphosphate，dCTP）和鸟苷酸磷酸（guanosine triphosphate，dGTP），产率达 95%（图 28）。

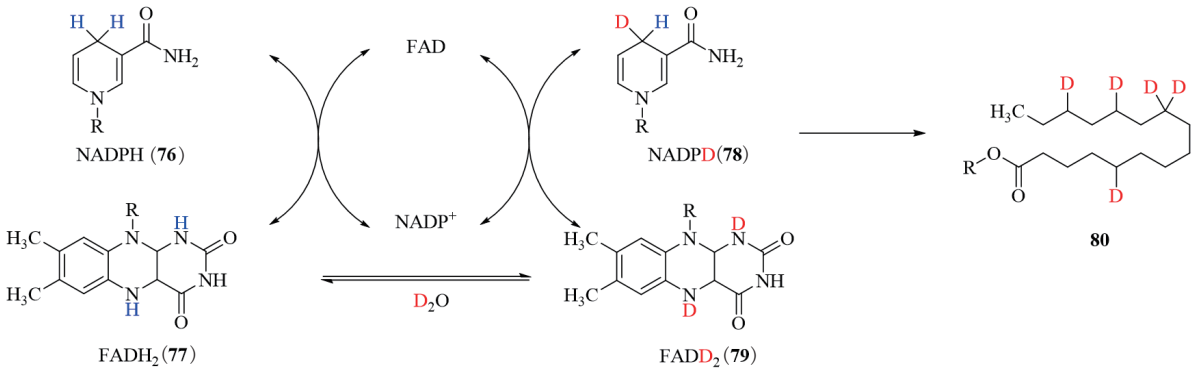


图 27　黄素酶催化 76 的 HDX

Fig.27　HDX Catalyzed by Flavinase of **76**

2006 年，EDEGGER 等 [42] 发现赤红球菌 *Rhodococcus ruber* DSM 44541 过表达的醇脱氢酶 ADH-'A' 具备高有机溶剂耐受性。该酶以 2- 丙醇 -d_8 作为氘源，在由酮制备具有严格 (*S*)- 型选择性的氘代仲醇过程中，表现出极高的立体选择性。

在醇脱氢酶 ADH-'A' 作用下，2- 丙醇 -d_8 脱去 2 个氘代氢变为 2- 丙酮 -d_6，然后烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（nicotinamide adenine dinucleotide，NAD^+）接收氘代氢变为 NADD，最后还原态的 NADD 将自身的氘代氢插入仲醇类似物的不饱和羰基中，形成严格 (*S*)- 型选择性的氘代仲醇类似物。该反应扩大到 300 mg 后，分离产率达 70%～89%，氘代率大于 99%（图 29）。

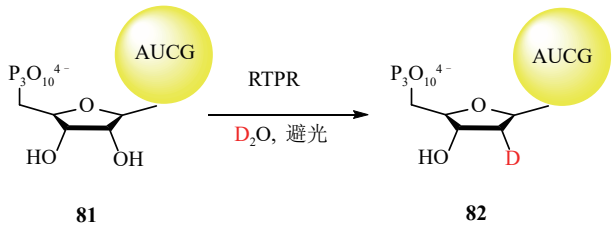


图 28　氘代 dATP、dGTP、dCTP 的合成

Fig.28　Synthesis of Deuterated dATP, dGTP and dCTP

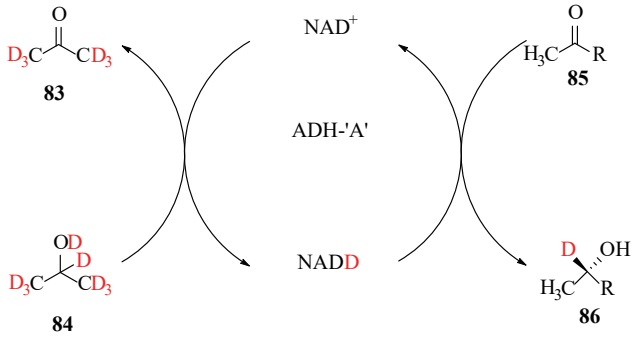


图 29　利用氘代 NADH 合成手性氘代仲醇

Fig.29　Synthesis of Chiral Deuterated Secondary Alcohols Using Deuterated NADH

2015 年，REEVE 等 [43] 通过碳载体将氢化酶氧化时产生的电子传递给 NAD^+ 还原酶，将 D_2O 中氘原子引入 NADH，再结合其他 NADP 依赖型还原酶合成出多种手性氘代化合物，氘代率达 99%（图 30）。

2020 年，该方法成功应用于药物合成，例如富马酸索利那新。首先，根据 NAD^+ 还原策略，将氘原子引入了 NADH。然后在根癌农杆菌 *Agrobacterium tumefaciens*（AtQR）的喹啉酮还原酶作用下，将 NADD 的氘原子插入 (*R*)-3- 喹核酮的不饱和羰基上，形成氘代 (*R*)-3- 喹核醇，氘代率 98%。然后，氘代 (*R*)-3- 喹核醇经过缩合反应、成富马酸盐，最终得到氘代富马酸索利那新 (**95**) [44]（图 31）。

FU 等 [45] 报道了首例人工光酶催化的脱卤还原反应，将芳卤类原料一步转化为氘代芳烃，再经基因

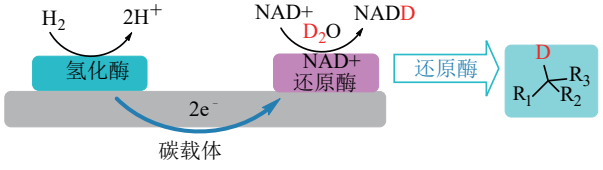


图 30　NAD^+ 还原酶的氘代仲醇合成

Fig.30　Synthesis of Deuterated Secondary Alcohols Using NAD^+ Reductase

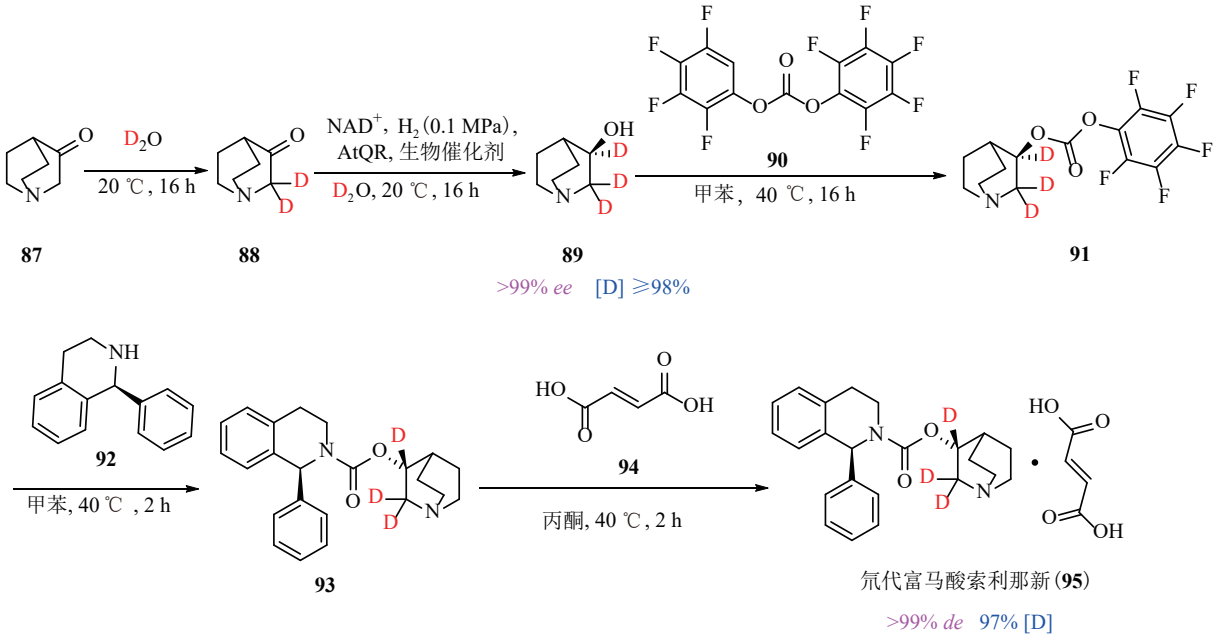


图 31　利用 NAD^+ 还原酶合成 95

Fig.31　Synthesis of **95** Using NAD^+ Reductase

重组的大肠埃希菌进行全细胞光生物催化，具有条件温和、选择性高、底物普适性广等优点。该团队开发了人工光敏脱卤酶 (reductive photodehalogenase，RPDase)，能将吸电子基团或供电子基团取代的芳基溴化物、溴苯、4- 溴苯胺、溴代吲哚、卤代吡啶及杂环芳烃等卤代烃底物转化为芳烃。在进一步的控制试验中，发现脱卤还原的氢原子专一性地来源于甲酸钠，且不受反应液介质影响。因此，FU 等 [45] 以氘代甲酸钠为还原剂，发现了一种专一选择性的生物催化脱卤氘代反应，并成功地应用于烟酸类似物、倍他米隆甲酯、马尿酸甲酯、沙利度胺、溴芬酸等一系列生物活性分子的氘代衍生物制备 (图 32)。

2.3　生物酶催化的脱羧氘代反应

脱羧氘代反应是特异性引入氘元素的重要策略。生物催化的脱羧氘代反应与化学脱羧相比，无需高温条件、昂贵的配体或贵金属催化剂，具有安全、廉价、环保等优势。XU 等 [46] 发现，光脱羧酶 (fatty acid photodecarboxylase from *Chlorella variabilis* NC64A，CvFAP) 可进行生物催化脱羧氘代。含黄素腺嘌呤二核苷酸 (flavin adenine dinucleotide，FAD) 的 CvFAP 吸收蓝光后，FAD 转变为激发态，使长链脂肪酸脱羧形成自由基。接着，以 D_2O 为氘源，可将精氨酸残基的活泼氢氘代。最后，激发态的 FAD 发生单电子转移，将氘代精氨酸的氘质子转移到长链脂肪酸自由基上，从而生成氘代烷烃 [46—47] (图 33)。

该课题组利用聚焦理性迭代定点突变方法对 CvFAP 进行蛋白质工程化改造，得到了 3 种突变体 (I398L/G462A/Y466A)，扩展了 CvFAP 的底物谱。与野生型相比，I398L 突变体可将催化壬酸的反应活性提高 10 倍，G462A 突变体可将丙酸的产率由 3% 提高至 78%，Y466A 突变体可将 3- 苯基丁酸的产率由 3% 提高至 81%。新型光脱羧酶 CvFAP 催化氘代反应的新方法，为新药研发、合成化学及生命科学研究领域提供了更好的酶催化剂。

3　结语和展望

在药物分子氘代修饰的化学合成法中，不论是使用含氘小分子亲核试剂，还是使用氘代还原试剂，又或是采用氢氘同位素交换，通过氘代引入 CD_3 是最为普遍的。一是因为氘源便宜，成本较低，易于放大；二是收率较高，CD_3 相对稳定，氘不易丢失；三是引入 CD_3 更加灵活，可根据反应路线确定何时引入 CD_3。对于酸碱催化的 HDX，弱酸弱碱催化相对温和，适合对含有活泼质子的药物分子进行氘代修

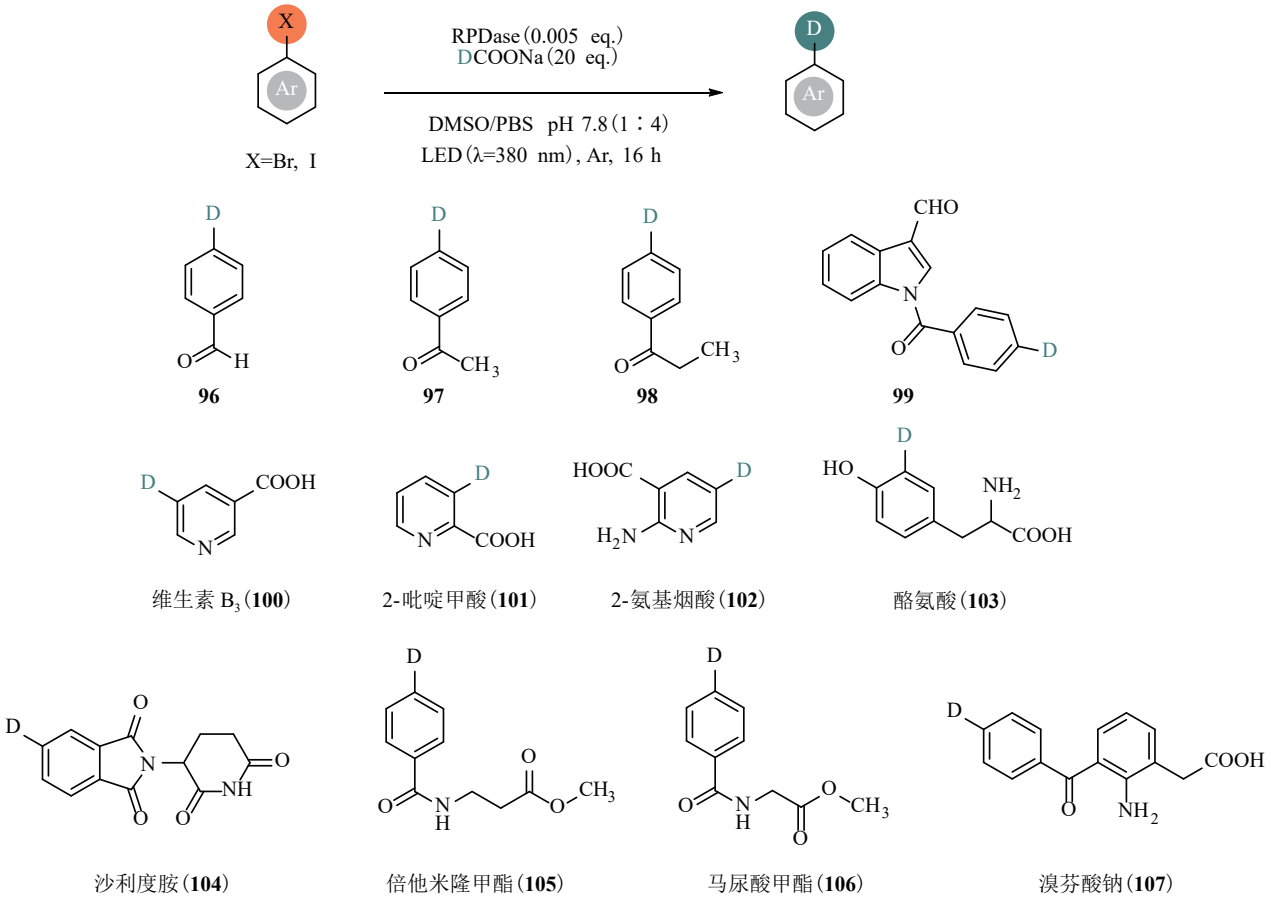


图 32　用 RPDase 制备的生物活性分子的氘代衍生物

Fig.32　Preparation of Deuterated Derivatives of Biologically Active Molecules by RPDase

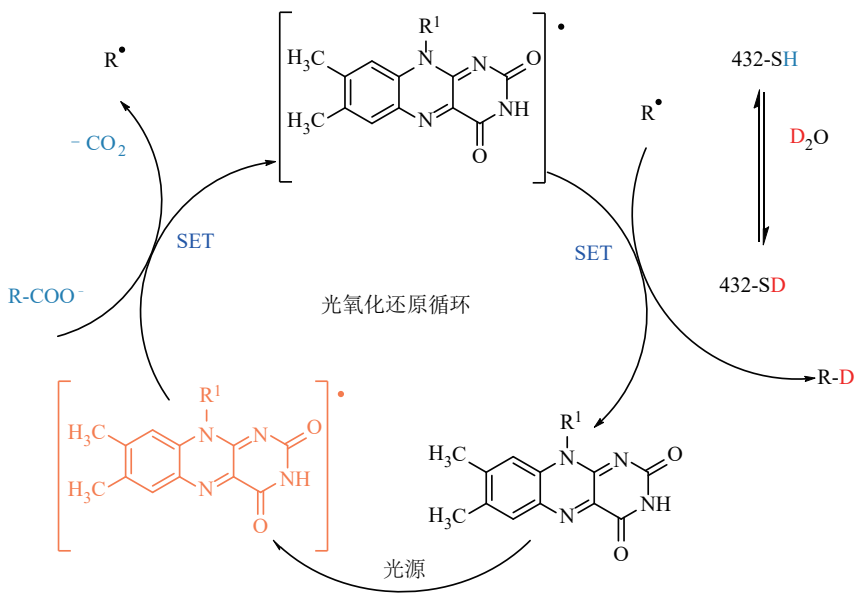


图 33　CvFAP 催化的脱羧氘代反应

Fig.33　Decarboxylative Deuteration Catalyzed by CvFAP

饰。但如果酸碱性过强，底物的耐受性将会是一个挑战。对于金属催化 HDX，得益于近年来 C-H 键直接官能团化的发展，已形成了结构种类多样、标记位点各异的 HIE 工具库，但该类 HIE 反应存在交换速率低下、位置选择性差的问题，限制了进一步应用。

生物酶催化法作为近年来发展起来的合成氘代药物新方法，具有反应条件温和、催化活性高、区域 / 立体选择性好、绿色环保等优点，适用于脂肪链碳 - 氢键、氨基 α 位碳 - 氢键、醛基碳 - 氢键等一系列惰性碳 - 氢键氘代反应。然而，生物酶的贮存条件严苛、反应稳定性差、底物适配性差，制约了其在工业生产中的应用。但生物酶催化法仍具有其不可替代的优势，必将成为化学合成法的重要补充，在生物医药与化学化工领域得到越来越广泛的应用。

参考文献：

[1] GANT T G. Using deuterium in drug discovery: leaving the label in the drug [J]. *J Med Chem*, 2014, **57**(9): 3595-3611.

[2] BELLEAU B, BURBA J, PINDELL M, *et al*. Effect of deuterium substitution in sympathomimetic amines on adrenergic responses [J]. *Science*, 1961, **133**(3446): 102-104.

[3] ELISON C, RAPOPORT H, LAURSEN R, *et al*. Effect of deuteration of N-CH_3 group on potency and enzymatic *N*-demethylation of morphine [J]. *Science*, 1961, **134**(3485): 1078-1079.

[4] DEWITT S H, MARYANOFF B E. Deuterated drug molecules: focus on FDA-approved deutetrabenazine (published as part of the biochemistry series "biochemistry to bedside") [J]. *Biochemistry*, 2018, **57**(5): 472-473.

[5] SCHMIDT C. First deuterated drug approved [J]. *Nat Biotechnol*, 2017, **35**(6): 493-494.

[6] DEAN M, SUNG V W. Review of deutetrabenazine: a novel treatment for chorea associated with Huntington's disease [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, **12**: 313-319.

[7] PIRALI T, SERAFINI M, CARGNIN S, *et al*. Applications of deuterium in medicinal chemistry [J]. *J Med Chem*, 2019, **62**(11): 5276-5297.

[8] XU X L, ZHANG W, RAO G W. Clinical application and synthesis methods of deuterated drugs [J]. *Curr Med Chem*, 2023, **30**(36): 4096-4129.

[9] DI MARTINO R M C, MAXWELL B D, PIRALI T. Deuterium in drug discovery: progress, opportunities and challenges [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2023, **22**(7): 562-584.

[10] 李国靖 , 马 潇 , 贾 萌 , 等. 氘代丁苯那嗪合成工艺优化 [J]. 中国医药工业杂志 , 2021, **52**(12): 1595-1598.

[11] 仇中选 , 王 东 , 黄龙江. 马来酸氟伏沙明 -D_3 的合成 [J]. 合成化学 , 2022, **30**(9): 726-732.

[12] 王 昌 , 梁林辉 , 姚永秀 , 等. 达比加群酯 -d_3 的合成 [J]. 化学试剂 , 2024, **46**(1): 105-110.

[13] POTESTIO L, RUGGIERO A, FABBROCINI G, *et al*. Effectiveness and safety of deucravacitinib for the management of psoriasis: a review of the current literature [J]. *Psoriasis* (Auckl), 2023, **13**: 19-26.

[14] TREITLER D S, SOUMEILLANT M C, SIMMONS E M, *et al*. Development of a commercial process for deucravacitinib, a deuterated API for TYK2 inhibition [J]. *Org Process Res Dev*, 2022, **26**(4): 1202-1222.

[15] SU F F, WU F L, TANG H, *et al*. Efficient and facile synthesis of novel stable monodeuterium labeled ractopamine [J]. *J Labelled Comp Radiopharm*, 2015, **58**(13/14): 479-482.

[16] JANSON P A, WATT J B, HERMOS J A. Doxepin overdose: success with physostigmine and failure with neostigmine in reversing toxicity [J]. *JAMA*, 1977, **237**(24): 2632-2633.

[17] ADAMCZYK M, FISHPAUGH J, JOHNSON D D. Synthesis of [*N*-trideuteromethyl] labelled E-doxepin [J]. *J Labelled Compd Radiopharm*, 1993, **33**(2): 153-155.

[18] GIUSEPPE D A, CASTARLENAS R, ORO L A. Mechanistic considerations on catalytic H/D exchange mediated by organometallic transition metal complexes [J]. *Comptes Rendus Chimie*, 2015, **18**(7): 713-741.

[19] TUNG R D, LIU J F, HARBESON S L. Substituted xanthine derivatives: US, 20110059995A1 [P]. 2011-03-10.

[20] ROGAWSKI M A, HELLER A H. Diazepam buccal film for the treatment of acute seizures [J]. *Epilepsy Behav*, 2019, **101**(Pt B): 106537.

[21] 公安部物证鉴定中心. 氘代地西泮及其制备方法 : 中国 , 103204819A [P]. 2013-07-17.

[22] YU P R, HESK D, RIVERA N, *et al*. Iron-catalysed tritiation of pharmaceuticals [J]. *Nature*, 2016, **529**(7585): 195-199.

[23] YANG H F, ZARATE C, PALMER W N, *et al*. Site-selective nickel-catalyzed hydrogen isotope exchange in *N*-heterocycles and its application to the tritiation of pharmaceuticals [J]. *ACS Catal*, 2018, **8**(11): 10210-10218.

[24] PRAKASH G, PAUL N, OLIVER G A, *et al*. C-H deuteration

of organic compounds and potential drug candidates [J]. *Chem Soc Rev*, 2022, **51**(8): 3123-3163.

[25] 吴文超, 张　池, 沈祖成, 等. 具有高同位素丰度氘标记的洛沙坦及5-羧酸洛沙坦的合成[J]. 中国药科大学学报, 2012, **43**(6): 497-501.

[26] HU G Q, BAI J W, LI E C, *et al*. Synthesis of multideuterated (hetero)aryl bromides by Ag(I)-catalyzed H/D exchange [J]. *Org Lett*, 2021, **23**(5): 1554-1560.

[27] HAVALDAR F H, DABHOLKAR B V, MULE G B, *et al*. Synthesis of deuterium-labelled isotopomer of deferasirox [J]. *J Labelled Comp Radiopharm*, 2015, **58**(4): 163-165.

[28] NILSSON G N, KERR W J. The development and use of novel iridium complexes as catalysts for ortho-directed hydrogen isotope exchange reactions [J]. *J Labelled Comp Radiopharm*, 2010, **53**(11-12): 662-667.

[29] KERR W J, KNOX G J, PATERSON L C. Recent advances in iridium(I) catalysis towards directed hydrogen isotope exchange [J]. *J Labelled Comp Radiopharm*, 2020, **63**(6): 281-295.

[30] FLINKER M, YIN H, JUHL R W, *et al*. Efficient water reduction with sp^3-sp^3 diboron(4) compounds: application to hydrogenations, H-D exchange reactions, and carbonyl reductions [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2017, **56**(50): 15910-15915.

[31] MODVIG A, ANDERSEN T L, TAANING R H, *et al*. Two-chamber hydrogen generation and application: access to pressurized deuterium gas [J]. *J Org Chem*, 2014, **79**(12): 5861-5868.

[32] LI Y J, YE Z Q, LIN Y M, *et al*. Organophotocatalytic selective deuterodehalogenation of aryl or alkyl chlorides [J]. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 2894.

[33] AGARWAL V, MILES Z D, WINTER J M, *et al*. Enzymatic halogenation and dehalogenation reactions: pervasive and mechanistically diverse [J]. *Chem Rev*, 2017, **117**(8): 5619-5674.

[34] PETRONE D A, YE J, LAUTENS M. Modern transition-metal-catalyzed carbon-halogen bond formation [J]. *Chem Rev*, 2016, **116**(14): 8003-8104.

[35] LIU C B, CHEN Z X, SU C L, *et al*. Controllable deuteration of halogenated compounds by photocatalytic D_2O splitting [J]. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 80.

[36] LEGROS F, FERNANDEZ-RODRIGUEZ P, MISHRA A, *et al*. Photoredox-mediated hydrogen isotope exchange reactions of amino-acids, peptides, and peptide-derived drugs [J]. *Chemistry*, 2020, **26**(56): 12738-12742.

[37] BORODA E, RAKOWSKA S, KAŃSKI R, *et al*. Enzymatic synthesis of L-tryptophan and 5 prime-hydroxy-L-tryptophan labeled with deuterium and tritium at the alpha-carbon position [J]. *J Labelled Compd Radiopharm*, 2003, **46**(8): 691-698.

[38] KAWATA Y, TANI S, SATO M, *et al*. Preliminary X-ray crystallographic analysis of tryptophanase from *Escherichia coli* [J]. *FEBS Lett*, 1991, **284**(2): 270-272.

[39] PAJAK M, KAŃSKA M. Synthesis of isotopomers of L-DOPA and dopamine labeled with hydrogen isotopes in the side chain [J]. *J Radioanal Nucl Chem*, 2009, **281**(3): 365-370.

[40] ZHANG Z Y, CHEN L, LIU L, *et al*. Chemical basis for deuterium labeling of fat and NADPH [J]. *J Am Chem Soc*, 2017, **139**(41): 14368-14371.

[41] MACDONALD D, LU P. Determination of DNA structure in solution: enzymatic deuteration of the ribose 2' carbon [J]. *J Am Chem Soc*, 2002, **124**(33): 9722-9723.

[42] EDEGGER K, GRUBER C C, POESSL T M, *et al*. Biocatalytic deuterium-and hydrogen-transfer using over-expressed ADH-'A': enhanced stereoselectivity and 2 H-labeled chiral alcohols [J]. *Chem Commun (Camb)*, 2006, (22): 2402-2404.

[43] REEVE H A, LAUTERBACH L, LENZ O, *et al*. Enzyme-modified particles for selective biocatalytic hydrogenation by hydrogen-driven NADH recycling [J]. *Chem Cat Chem*, 2015, **7**(21): 3480-3487.

[44] ROWBOTHAM J S, RAMIREZ M A, LENZ O, *et al*. Bringing biocatalytic deuteration into the toolbox of asymmetric isotopic labelling techniques [J]. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 1454.

[45] FU Y, LIU X H, YAN X, *et al*. Whole-cell-catalyzed hydrogenation/deuteration of aryl halides with a genetically repurposed photodehalogenase [J]. *Chem*, 2023, **9**(7): 1897-1909.

[46] XU J, FAN J J, LOU Y J, *et al*. Light-driven decarboxylative deuteration enabled by a divergently engineered photodecarboxylase [J]. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 3983.

[47] SORIGUÉ D, LÉGERET B, CUINÉ S, *et al*. An algal photoenzyme converts fatty acids to hydrocarbons [J]. *Science*, 2017, **357**(6354): 903-907.